Untersuchungen zur Beeinflussung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings durch Adrenalytica, Antihistaminica und Heparininaktivatoren

von

OTTMAR JOSEF MICHAEL TRAUT

1962

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität

München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Untersuchungen zur Beeinflussung des Farbstoff- Hyaluronidase-Spreadings durch Adrenalytica, Antihistaminica und Heparininaktivatoren.

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ottmar Josef Michael Traut

aus

Riedenburg/Opf.

1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München
Referent: Professor Dr. W. Seitz
Dekan: Professor Dr. W. Seitz
Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juli 1962

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Problematik 5

Eigene Versuche 11

Methodik 11

Versuchsreihen 12

Statistische Auswertung 14

Diskussion 20

Tabellenanhang 21

Zusammenfassung 37

Literaturverzeichnis 38

Problematik

Hyaluronidasehemmung im Sinne unserer Versuchsanordnung ist als Hemmung des durch Hyaluronidase geförderten Farbstoff-Spreadings zu verstehen. Als Spreading bezeichnet man die Ausbreitung eines intracutan applizierten Farbstoffs.
Von Substanzen, die das Hyaluronidase-Spreading hemmen, sind in früheren Arbeiten hauptsächlich antirheumatisch wirksame Substanzen untersucht worden [1 - 12]. Über die Wirkungsweise dieser Substanzen wurde festgestellt, daß sie in üblicher Dosierung grösstenteils nur in vivo, nicht dagegen in vitro hyaluronidasehemmend wirksam sind. Deshalb mußte ein Wirkungsmechanismus über körpereigene, zwischengeschaltete Wirkstoffe (Fermente oder Hormone) angenommen werden.
An Substanzen wurden Salicylate [1], Phenylbutazon [2], Glucocorticoide [3], Chloraethylmethoxazon [4], Oestronsulfat [5], Nicopyron [6], Moor- [7,8,9] und Schwefelbäder [10] getestet. Die hyaluronidasehemmende Wirkung dieser Substanzen wurde nachgewiesen bzw. bestätigt.
Mit einem großen Teil dieser Substanzen wurden Versuche auch an adrenalektomierten und hypophysektomierten Tieren durchgeführt, wobei sich zeigte, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung bei adrenalektomierten ausblieb, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Das bedeutet, daß die Nebenniere für die Hyaluronidasehemmung wichtig ist. Damit war noch nicht geklärt, ob die Rinde oder das Mark wesentlich sind. Deshalb wurde mit Hilfe des Sayers-Testes zu klären versucht, welche Rolle die Rinde spielt. Mit Hilfe dieses Testes führten D o m e n j o z [13] Untersuchungen mit Natriumsalizylat, Phenylbutazon und Cortison und M a t h i e s [14] mit Moorbädern durch. Dabei wurde festgestellt, daß der Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere unter diesen geprüften Substanzen abnimmt, natürlich mit Ausnahme unter Cortison, da das NNR-Hormon die Nebennierenrinde nicht aktiviert. Die anderen Substanzen bewirken eine Abnahme der Ascorbinsäure in der NNR, womit nach S a y e r s [15,16] anzunehmen ist, daß die

Nebennierenrinde stimuliert wird. Die Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes findet bei hypophysektomierten Tieren nicht statt, obwohl nach Hypophysektomie die Hyaluronidasehemmung erhalten bleibt. Es ist daraus zu schließen, daß zwar eine Rindenstimulierung stattfindet, die aber nicht für die Hyaluronidasehemmung maßgebend sein kann. Für diese Annahme spricht auch, daß Cortison bei adrenalektomierten Tieren keine Hyaluronidasehemmung bewirkt. Daraus folgt der Schluß, daß das Nebennierenmark für die Hyaluronidasehemmung maßgebend ist.

Um diese Annahme zu unterbauen, wurden von M a t h i e s [5,17] die Nebennierenmarkshormone Adrenalin und Noradrenalin untersucht. Adrenalin und Noradrenalin haben bei experimenteller Zufuhr eine hyaluronidasehemmende Wirkung in der Versuchsanordnung des Spreadings. Diese hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin ist in gleichen Dosen annähernd gleich stark und ist auch bei adrenalektomierten Tieren vorhanden. Ein weiterer Beweis für eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung ist, daß unter Einfluß eines Ganglienblockers die spreadinghemmende Wirkung der untersuchten spreadinghemmenden Stoffe (Salizylate usw.) ausbleibt [18] Die Ganglienblocker wirken blockierend auf das Nebennierenmark als differenziertes Ganglion (E i c h h o l t z [19]), Periphere Angriffspunkte bezüglich der blockierenden Beeinflussung der Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings können nicht wirksam werden, weil die Hyaluronidasehemmung des Adrenalin und Noradrenalin durch Ganglienblocker nicht aufgehoben wird.

Weitere Versuche wurden durchgeführt, um den Einfluß von Adrenalytica wie Ergotamin und Regitin auf die Hyaluronidasehemmung zu klären [5,20]. Diese Stoffe blockieren ebenfalls die hyaluronidasehemmende Wirkung der Salizylate usw., sowie die des Adrenalin und Noradrenalin.

Man sah, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin erst auftritt, wenn die primäre an der Pupillenweite sichtbare Wirkung der Katecholamine abgeklungen ist

Die Pupille erweitert sich durch Adrenalin, diese Wirkung klingt nach wenigen Minuten wieder ab, eine Hyaluronidasehemmung ist jedoch erst nach 15 Minuten erkennbar. Daraus ist zu schließen, daß keine direkte Katecholaminwirkung vorliegen kann.

Es sind mehrere Möglichkeiten gegeben, wie diese indirekte Wirkung zustande kommt: Es kann eine gegenregulatorische Wirkung vorliegen, d.h., daß erst die vagale Gegenregulation auf die Adrenalinwirkung die Hyaluronidasehemmung auslöst. Es müßte dann auch ein primär verabreichter Vagusstoff bei adrenalektomierten Tieren die Hyaluronidasehemmung auslösen. Wenn man bei adrenalektomierten Tieren 1 mg Acetylcholin (zusammen mit 5 γ Prostigmin als Cholinesterasehemmer) / 100 g verabreicht, dann tritt keine hyaluronidasehemmende Wirkung ein [21]. Die Annahme, daß die vagale Gegenregulation die Hyaluronidasehemmung auslöst, ist damit unwahrscheinlich. Weiter ist zu diskutieren, ob erst die Rückkehr des Katecholaminblutspiegels auf normale Werte nach vorherigem Anstieg die Hyaluronidasehemmung auslöst. Dies konnte durch Versuche von M a t h i e s und S c h l i e r f [22] wahrscheinlich gemacht werden. Sie verabreichten adrenalektomierten Tieren eine Adrenalin-Dauerinfusion über zwei Stunden und stellten fest, daß auch hier die Hyaluronidasehemmung erst in einem gewissen Zeitabstand nach Absetzen der Infusion auftritt. Wenn während dieser Infusion "Spitzen" einmaliger höherer Adrenalin- oder Noradrenalin-Dosierungen gesetzt werden, dann tritt eine Hyaluronidasehemmung bereits während der Dauertropfinfusion im Anschluß an diese "Spitzen" auf. Dies ist gleichzeitig ein Beweis dafür, daß nicht das Absinken auf den Normalwert, sondern bereits eine relative Niveaudifferenz notwendig ist. Ferner ist diese Versuchsanordnung ein Beweis dafür, daß eine weitere Annahme nicht zutrifft, nach der Katecholaminabbauprodukte für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung maßgebend wären. Es bleibt die Feststellung, daß das Absinken des Katecholaminblutspiegels von einem höheren auf ein niedrigeres Niveau die Hya-

luronidasehemmung auslöst.
Ferner wurden Versuche mit dem Monaminooxydasehemmer Iproniacid vorgenommen [23]. Es wurde damit der Nachweis erbracht, daß auch das Absinken des Katecholaminblutspiegels unter das Normal-Niveau eine Hyaluronidasehemmung bewirkt. Das bedeutet, daß jegliches Absinken des Katecholaminblutspiegels eine Hyaluronidasehemmung auslöst. Die Mindestdifferenz muß 1γ Adrenalin pro 100 gr Tier als Minimum betragen. Daß Iproniacid eine hyaluronidasehemmende Wirkung hat, und daß diese Hemmung weder durch Ganglienblocker noch durch Adrenalytica aufgehoben wird, bedeutet, daß die Monaminooxydasehemmer ein Absinken des Katecholaminblutspiegels bewirken, das nicht nach vorheriger Steigerung infolge einer Nebennierenmarkstimulierung erfolgt sein kann. Sonst hätte man mit einem Ganglienblocker wie auch mit Ergotamin diesen Vorgang blokkieren können. Eine Möglichkeit, daß Iponiacid über eine Steigerung des Blutkatecholaminspiegels gewirkt hätte, ohne daß das Nebennierenmark aktiviert worden wäre, wäre höchstens durch Hemmung des Adrenalinabbaus möglich. Monaminooxydasehemmer sind Stoffe, die den Abbau von Adrenalin und Noradrenalin hemmen. Eine hemmende Wirkung auf den Metabolismus in der Blutbahn ist jedoch nicht anzunehmen, weil die Hyaluronidasehemmung verzögert sein müßte, wenn man Adrenalin unter Iproniacid-Einfluß injiziert. Also kann die hyaluronidasehemmende Wirkung des Iproniacid nicht durch vorherige Erhöhung zustande kommen. Das deckt sich mit den bisherigen Befunden, daß Iproniacid eine Ansammlung von Adrenalin und Noradrenalin im Gewebe und damit speziell eine Ansammlung von Katecholaminen im Nebennierenmark bewirkt und deren Ausschüttung hemmt; d.h.: Die normale Sekretion wird vermindert, dadurch sinkt entsprechend der Blutspiegel.
Es ist anzunehmen, daß ein weiterer Faktor im Anschluß an das Absinken des Katecholaminblutspiegels zwischengeschaltet ist, der die Hyaluronidasehemmung bewirkt. Es war zu untersuchen, welche körpereigenen Substanzen hier in Frage kommen. Möglicherweise spielt hier das Heparin eine Rolle, das körper-

eigen ist und eine Hyaluronidasehemmung auch in vitro auslöst [12]. Deshalb besteht die Möglichkeit, daß das Heparin das Endglied dieser Wirkungskette ist. Aus früheren Untersuchungen mit Heparin ergibt sich, daß schon 15 Einheiten Heparin/100 g Tier die Hyaluronidase hemmen. Diese Hyaluronidasehemmung ist mit Protaminsulfat, welches eine heparininaktivierende Substanz darstellt, aufzuheben [12]. Die Heparin-Dosis von 15 I.E./100 g liegt an der unteren Grenze der Menge, die noch einen Einfluß auf die Blutgerinnung ausübt (H a r d e g g u. M a s s) [24]. Deshalb handelt es sich um eine Wirkung, die nicht im Zusammenhang mit der Gerinnungswirkung von Heparin steht. Protaminsulfat blockiert die Hyaluronidasehemmung des Adrenalins und Noradrenalins sowie die der geprüften antirheumatischen Substanzen.
Das Heparin befindet sich in den Mastzellen und ist dort chemisch an Histamin gebunden [25]. Deshalb wurde auch Histamin hinsichtlich seines Einflusses auf das Hyaluronidase-Spreading untersucht [12,26]. Histamin hemmt in sehr geringen Dosen die Hyaluronidaseaktivität [12,26]. Diese Hemmung wird z.B. durch das Antihistaminikum Avil aufgehoben [12,26]. Avil blockiert gleichzeitig die Hyaluronidasehemmung der hyaluronidasehemmenden Substanzen und des Adrenalins und Noradrenalins [12,26]. Ergotamin als Adrenalytikum blockiert ebenfalls die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins [12,26]. Protaminsulfat reduziert aber auch die Hyaluronidasehemmung des Histamins und Avil die des Heparins [12,26], so daß eine Freisetzung beider Substanzen aus den Mastzellen möglich ist, wobei sowohl Histamin als auch Heparin in gegenseitiger Abhängigkeit zur Wirkung kommen. Der Einfluß von Ganglienblockern auf die spreadinghemmende Wirkung des Histamins ist noch nicht untersucht worden.
L o e n i c k e r [27] hat den Einfluß von Ergotamin, Protaminsulfat und Avil allein auf das Hyaluronidase-Spreading untersucht und festgestellt, daß alle drei Substanzen, die den hyaluronidasehemmenden Effekt anderer Stoffe blockieren, für sich allein eine hyaluronidasehemmende Wirkung besitzen.

Nach seiner Ansicht ist es unwahrscheinlich, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Ergotamintartrats durch eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zustande kommt. Er diskutiert dagegen eine histaminmobilisierende Wirkung der Adrenolytica und weist auf die Feststellung von K o n t i s hin, nach der Histamin in geringen Dosen hyaluronidasehemmend wirksam ist. Bezüglich des Protaminsulfates zitiert er Arbeiten von H o u g i e [29], sowie M a r b e t, S t u d e r und W i n t e r s t e i n [30], nach denen auch auf gerinnungsphysiologischem Gebiete gleichgerichtete Wirkungen des Heparins und des Protaminsulfates im Sinne einer Hemmung der Blutgerinnung bekannt sind, während andererseits Protaminsulfat die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins blockiert. Hinsichtlich der Antihistaminica liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei Ergotamintartrat, indem nach H a a s [31] sowie K o n z e t t und R o t h l i n [32] Antihistaminica Adrenalin freisetzen. Es ist jedoch vorläufig nicht zu beweisen, ob der Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung durch das Antihistaminicum Avil über eine Adrenalinfreisetzung läuft, zumal der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins wiederum durch Avil deutlich reduziert wird. Es wird jedoch festgestellt, daß die Blockierung des hyaluronidasehemmenden Effektes entsprechend wirksamer Substanzen durch Ergotamintartrat, und Avil ein echter blockierender Effekt sein muß, da sonst anzunehmen wäre, daß die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eher verstärkt werden müßte.

Nach diesen Überlegungen war es interessant zu prüfen, welchen Einfluß eine zweite Injektion der gleichen Substanz (Ergotamintartrat, Protaminsulfat bzw. Avil) auf eine vorangehende Injektion hinsichtlich der Beeinflussung des Hyaluronidase-Spreadings ausübt.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Als Versuchstiere wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 155 - 215 g herangezogen. Die Ratten wurden mit Evipan (30 mg Evipan-Natrium/100 g , Tier) narkotisiert und hierauf die Haare der Bauchhaut mit Pilca entfernt. Zur Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität wurde ein Spreading-Test verwandt. Im Ganzen wurden auf die Bauchhaut eines Tieres 6 Quaddeln gesetzt. Zunächst wurden jeweils zwei intracutane Vergleichsquaddeln vor Gabe der Prüfsubstanzen gesetzt, von denen eine 0,1 ccm Farbstoff (F_v), die andere 0,1 ccm Farbstoff und Hyaluronidase (FH_v) enthielt. Als Farbstoff wurde 0,06 %ige Evansblaulösung verwendet. Die Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurde folgendermaßen zubereitet: 1 Trockenampulle Kinetin = 150 I.E. wurde in 2 ccm der 0,06 %igen Evansblaulösung gelöst, so daß bei der Injektion von 0,1 ccm für eine Quaddel 7,5 I.E. zur Wirkung kamen. 10 Minuten nach der Injektion wurde die Ausbreitung der Quaddeln markiert und die Begrenzungen auf einen Celluloid-Film übertragen. Der Flächeninhalt der Quaddeln wurde planimetrisch bestimmt. Die angegebenen Werte beziehen sich auf die Fläche, ausgedrückt in qmm. Weitere Quaddelpaare (F_1, F_2; FH_1, FH_2) wurden jeweils zu bestimmten Zeiten nach Gabe der zu untersuchenden Substanzen gesetzt. Die Ausbreitung wurde dann ebenfalls wieder nach 10 Minuten bestimmt. Für die Zwecke der Versuchsplanung wurde die Bauchhaut der Versuchstiere als ein Versuchsfeld mit 6 verschiedenen Lokalisationen aufgefaßt. Um etwaige Einflüsse der jeweiligen Lokalisation auf die Ergebnisse der Versuche auszuschalten, wurden diese Versuche als "Lateinische Quadrate" angelegt. Für jede einzelne Versuchsreihe wurden dabei, entsprechend den 6 Lokalisationen, 6 Versuchstiere benötigt, innerhalb dieser 6 Versuchstiere wird jedes der 6 Verfahren an jeder der 6 Lokalisationen appliziert (Tabellen 1 - 6). Da bei den vorliegenden

Versuchen primär die Frage interessierte, ob eine zweimalige, zeitlich aufeinanderfolgende Applikation einer der Prüfsubstanzen einen wesentlichen Einfluß auf die hyaluronidasehemmende Wirkung der Substanzen ausübt, wurde dementsprechend jede der 3 Substanzen an jedem Versuchstier zweimal appliziert; der Abstand zwischen den beiden Applikationen betrug dabei jeweils entweder 20' oder 45'. Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung erfolgte dann jeweils 15' nach der Applikation der Prüfsubstanz.

Versuchsreihen

Versuchsreihe 1: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Ergotamin 0,8 mg/100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 20'; Bestimmung des Hyaluronidase-Spreadings jeweils 15' nach jeder Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 7)

Versuchsreihe 2: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Ergotamin 0,8 mg/100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 45'; Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität jeweils 15' nach jeder Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 8)

Versuchsreihe 3: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Protaminsulfat 1 %, 1,5 mg/100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 20'; Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität jeweils 15' nach Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 9)

Versuchsreihe 4: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Protaminsulfat 1 %, 1,5 mg/100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 45'; Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität jeweils 15' nach Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 10)

Versuchsreihe 5: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Avil 5 mg/ 100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 20'; Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität jeweils 15' nach Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 11)

Versuchsreihe 6: Bestimmung der Hyaluronidasehemmung bei zweimaliger Applikation von Avil 5 mg/ 100 g s.c. Zeitlicher Abstand zwischen den beiden Applikationen 45'; Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität jeweils 15' nach Applikation gegenüber dem Kontrollwert.
(Ergebnis siehe Tabelle 12)

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Die statistische Auswertung dieser Versuchsergebnisse hat als primäre Aufgabe die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse wird hierbei zunächst in Komponenten zerlegt, die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen, welche das Versuchsergebnis beeinflussen. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich dabei nicht als Folge solcher systematischer Faktoren erklären lässt, wird dann als Schätzung der experimentellen Variabilität aufgefasst. Es können hierbei jedoch nur solche systematischen Faktoren erfasst werden, die bereits bei der Planung der Versuche entsprechend berücksichtigt wurden.

Bei der Planung der hier vorliegenden Versuche wurden folgende systematische Faktoren berücksichtigt:

Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere;
Wirkung der 6 Verfahren;
Systematischer Einfluß der Lokalisation.

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienten wir uns einer mehrfachen Varianz-Analyse. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluß, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in den Varianz-Analysen in Form von "Varianz-Komponenten", die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen. Die Schätzungen der experimentellen Variabilitäten liefern die Varianz-Analysen in Form der "Rest-Varianz".

Primär ist zu untersuchen, ob ein systematischer Faktor einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse besitzt. Dies ist nur dann der Fall, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch größer ist als die experimentelle

Variabilität (Rest-Varianz). Ob dies der Fall ist, wird in den Varianz-Analysen durch einen Vergleich dieser Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Testes geprüft.
Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär nur der Einfluss, den die sechs Verfahren auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln ausüben. Hierbei war zunächst zwischen den beiden Quaddel-Typen zu unterscheiden; außerdem war für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten einerseits und zwischen den Versuchszeiten selbst andererseits bestehen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanz auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus liegt nur dann vor, wenn mindestens eine der zwei orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddel-Typus gehören, statistisch gesichert größer ist als die Restvarianz. Die Prüfung dieser Frage wurde ebenfalls mit Hilfe des F-Tests durchgeführt.
Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse läßt keinen Schluß auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahrens" zu; es ist vielmehr nur möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier "Verfahren" statistisch zu prüfen. Die Größe dieses Unterschiedes wird dabei auf folgende Weise geschätzt; es sei hierzu $\bar{x}$ (V) das arithmetische Mittel aller Messwerte, die für das Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu zwei verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der "Wirkung" der Verfahren; gemessen wird hierbei die Differenz in der Diffusionsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehören. Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär der Unterschied

$$\delta\bar{x}\,(t) = \bar{x}\,(t) - \bar{x}\,(K)$$

zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in den Varianz-Analysen nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}$ (t) statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

2.) Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 13 - 24 dargestellt. In den Tabellen 13 - 18 ist für jede Versuchsreihe das Ergebnis der zugehörigen Varianz-Analyse angegeben; in den Tabellen 19 - 24 finden sich für jedes Verfahren die Mittelwerte $\bar{x}$ (V) und außerdem die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}$ (t) = $\bar{x}$ (t) - $\bar{x}$ (K). Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergab, daß eine Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}$ (t) statistisch gesichert von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" angegeben, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit diese Aussage maximal belastet ist. In der mit "Hemmung" überschriebenen Spalte ist schließlich die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hyaluronidase-Hemmung angegeben.
In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
Femp: den Varianz-Quotienten zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten Femp. in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Ein statistisch gesicherter Einfluß eines systematischen Faktors bzw. ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Verfahren liegt nur dann vor, wenn der zugehörige Varianz-Quotient Femp. eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer ist als 5 %. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst

gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten sogar kleiner als 1 % ist. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, eine Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}$ (t) sei statistisch gesichert von 0 verschieden, wurde daher nur angegeben, wenn diese nicht größer ist als 5 %. Entsprechend der Definition der Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}$ (t) bedeutet ein negatives Vorzeichen dieser Differenz, daß die Quaddeln zum Zeitpunkt t kleiner sind als die Kontroll-Quaddeln. Es liegt also in diesem Falle eine Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des jeweiligen Quaddel-Typus vor.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Versuchsreihe 1: Ein gesicherter Einfluß der Applikation von Ergotamin auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel läßt sich bei dieser Versuchsreihe weder nach der ersten noch nach der zweiten Applikation nachweisen. Für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel dagegen liegt eine statistisch gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit nach der ersten Applikation von Ergotamin vor; nach der zweiten Applikation von Ergotamin zeigt sich ebenfalls eine statistisch gesicherte Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität. Allerdings ergibt sich aus der Größe der zugehörigen Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}$ (t), daß die Hemmung nach der zweiten Applikation von Ergotamin wesentlich kleiner ist als nach der ersten. Dies läßt vermuten, daß die hyaluronidasehemmende Aktivität von Ergotamin bei der zweiten Applikation durch die vorangegangene Applikation von Ergotamin teilweise blockiert wird.

Versuchsreihe 2: Auch bei dieser Versuchsreihe läßt sich kein statistisch gesicherter Einfluß der Applikation von Ergotamin auf das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel nachweisen. Dagegen liegen für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln zu beiden Zeitpunkten statistisch gesicherte Veränderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit vor. Wie

sich aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}$ (t) ergibt, handelt es sich hierbei um eine Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit dieses Quaddel-Typus; er ist praktisch nach beiden Applikationen von Ergotamin gleichgroß. Vergleicht man dieses Ergebnis mit demjenigen der Versuchsreihe 1, so liegt der Schluß nahe, daß durch den größeren zeitlichen Abstand zwischen den beiden Applikationen von Ergotamin der blockierende Einfluß weitgehend aufgehoben worden ist, den die hyaluronidasehemmende Aktivität der zweiten Applikation ausübt.

Versuchsreihe 3: Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind praktisch denjenigen der Versuchsreihe 1 analog. Bei der reinen Farbstoff-Quaddel läßt sich kein statistisch gesicherter Einfluß der Applikation von Protaminsulfat auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit nachweisen; dagegen liegt eine statistisch gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach der ersten Applikation von Protaminsulfat vor. Nach der zweiten Applikation von Protaminsulfat läßt sich dagegen keine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nachweisen. Auch hier scheint es so zu sein, daß die erste Applikation von Protaminsulfat eine blockierende Wirkung auf die hyaluronidasehemmende Aktivität der zweiten Applikation ausübt.

Versuchsreihe 4: Die Ergebnisse sind denjenigen der Versuchsreihe 2 völlig analog; insgesamt entsprechen somit die Ergebnisse mit Protaminsulfat vollkommen denjenigen mit Ergotamin. Während für die reine Farbstoff-Quaddel keine statistisch gesicherte Veränderung in der Ausbreitungsgeschwindigkeit vorliegt, weisen die beiden Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln nach Applikation von Protaminsulfat praktisch die gleiche Hemmung ihrer Diffusionsgeschwindigkeit auf. Auch hier führt somit der größere zeitliche Abstand zwischen den beiden

Applikationen von Protaminsulfat dazu, daß die erste Applikation praktisch keinen blockierenden Einfluß mehr auf die hyaluronidasehemmende Aktivität der zweiten Applikation ausübt.

Versuchsreihe 5: Das Ergebnis dieser Versuchsreihe entspricht wiederum praktisch demjenigen der analogen Versuchsreihen mit Ergotamin (Versuchsreihe 1) und Protaminsulfat (Versuchsreihe 3). Eine nähere Diskussion erübrigt sich daher.

Versuchsreihe 6: Auch in dieser Versuchsreihe entspricht das Ergebnis praktisch demjenigen der analogen Versuchsreihen mit Ergotamin (Versuchsreihe 2) und Protaminsulfat (Versuchsreihe 4). Insgesamt läßt sich somit sagen, daß auch bei Avil bei zweimaliger Applikation und einem zeitlichen Abstand von 20 Minuten zwischen diesen Applikationen, die erste Applikation einen blockierenden Einfluß auf die hyaluronidasehemmende Aktivität der zweiten Applikation ausübt; beträgt dagegen der Abstand zwischen den beiden Applikationen 45 Minuten, so läßt sich kein Einfluß der ersten Applikation auf die zweite nachweisen.

Im Zusammenhang mit der von uns gewählten Versuchsplanung in "Lateinischen Quadraten" ist zu bemerken, daß wir bei keiner Versuchsreihe einen statistisch gesicherten Einfluß der Lokalisationen auf die Versuchsergebnisse nachweisen konnten. Hinsichtlich der Größe der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz) dieser Versuche sei bemerkt, daß sie sich durchweg in denjenigen Grenzen bewegt, die wir auf Grund von systematischen Versuchen für die hier vorliegende experimentelle Methode feststellen konnten.

Diskussion

Die Versuchsergebnisse der ersten Versuchsreihe zeigen, daß die Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings 15 Minuten nach Injektion von Ergotamintartrat durch eine im zeitlichen Abstand von 20 Minuten vorangehende erste Injektion der gleichen Substanz aufgehoben wird. Beträgt der zeitliche Abstand zwischen der ersten und zweiten Injektion 45 Minuten, so ist die blockierende Wirkung der ersten Applikation bereits wieder erloschen und der hyaluronidasehemmende Effekt der zweiten Applikation tritt wieder voll zu Tage. Die gleichen Verhältnisse zeigen die Ergebnisse der Versuchsreihe 2 und 3, nach denen sowohl Protaminsulfat als auch das Antihistaminikum Avil den hyaluronidasehemmenden Effekt der gleichen Substanz aufheben, wenn die Injektion im zeitlichen Abstand von 20 Minuten erfolgt und die Bestimmung 15 Minuten nach der zweiten Injektion durchgeführt wird. Bei einem zeitlichen Abstand von 45 Minuten zwischen der ersten und zweiten Injektion ist die blockierende Wirkung auch im Falle des Protaminsulfats und Avils wieder erloschen. Damit ist sicher gestellt, daß alle untersuchten Substanzen auch ihre eigene hyaluronidasehemmende Wirkung blockieren können. Zugleich erhärten die Versuchsergebnisse, die in früheren Arbeiten von M a t h i e s und Mitarbeitern gezeigte Wirkung eines blockierenden Effektes hinsichtlich der Hyaluronidasehemmung anderer Substanzen durch Ergotamintartrat, Protaminsulfat und Avil. Es kann vorläufig nicht geklärt werden, wie speziell in der in der vorgelegten Arbeit gewählten Versuchsanordnung dieser Effekt zu deuten ist. Ferner geben die Versuchsergebnisse darüber Aufschluß, wie lang mit einem blockierenden Einfluß der untersuchten Substanzen auf die Hyaluronidasehemmung zu rechnen ist. Unter Berücksichtigung des gewählten Zeitabstandes zwischen beiden Injektionen kann mit einer blockierenden Wirkung über 35 Minuten mit Sicherheit gerechnet werden, während nach 60 Minuten kein blockierender Effekt mehr besteht.

Tabellenanhang

Tabelle 1

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	FH_1	FH_v	F_1	F_v	F_2	FH_2
2	FH_v	FH_2	F_2	FH_1	F_v	F_1
3	FH_2	F_1	F_v	FH_v	FH_1	F_2
4	F_1	F_2	FH_1	FH_2	FH_v	F_v
5	F_2	F_v	FH_v	F_1	FH_2	FH_1
6	F_v	FH_1	FH_2	F_2	F_1	FH_v

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 1)

Tabelle 2

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	F_v	FH_1	F_1	F_2	FH_2	FH_v
2	F_1	FH_v	F_2	FH_2	FH_1	F_v
3	F_2	F_v	FH_2	FH_1	FH_v	F_1
4	FH_2	F_1	FH_1	FH_v	F_v	F_2
5	FH_1	F_2	FH_v	F_v	F_1	FH_2
6	FH_v	FH_2	F_v	F_1	F_2	FH_1

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 2)

Tabelle 3

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	F_2	F_v	FH_1	FH_v	F_1	FH_2
2	FH_1	FH_v	F_1	F_2	FH_2	F_v
3	F_1	F_2	FH_2	FH_1	F_v	FH_v
4	FH_2	FH_1	F_v	F_1	FH_v	F_2
5	F_v	F_1	FH_v	FH_2	F_2	FH_1
6	FH_v	FH_2	F_2	F_v	FH_1	F_1

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 3)

Tabelle 4

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	F_1	FH_1	FH_v	FH_2	F_2	F_v
2	FH_v	FH_2	F_2	F_1	F_v	FH_1
3	F_2	F_1	F_v	FH_v	FH_1	FH_2
4	F_v	FH_v	FH_1	F_2	FH_2	F_1
5	FH_1	F_2	FH_2	F_v	F_1	FH_v
6	FH_2	F_v	F_1	FH_1	FH_v	F_2

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 4)

Tabelle 5

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	F_1	F_2	F_v	FH_1	FH_v	FH_2
2	F_v	FH_1	FH_v	F_1	FH_2	F_2
3	FH_v	F_1	FH_2	F_v	F_2	FH_1
4	FH_2	F_v	F_2	FH_v	FH_1	F_1
5	F_2	FH_v	FH_1	FH_2	F_1	F_v
6	FH_1	FH_2	F_1	F_2	F_v	FH_v

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 5)

Tabelle 6

Lokalisation

Tiere	1	2	3	4	5	6
1	F_v	F_2	FH_2	FH_1	FH_v	FH_1
2	FH_1	F_v	FH_v	FH_2	F_1	F_2
3	FH_2	FH_1	F_1	FH_v	F_2	F_v
4	FH_v	FH_2	F_2	F_1	F_v	FH_1
5	F_1	FH_v	F_v	F_2	FH_1	FH_2
6	F_2	F_1	FH_1	F_v	FH_2	FH_v

Lokalisationsschema
(Versuchsreihe 6)

Tabelle 7

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 0,8 mg Ergotamin pro 100 g s. c.					
1	119	229	117	167	120	216
2	120	238	117	188	120	227
3	123	237	120	187	117	203
4	130	227	119	179	125	236
5	134	238	120	199	130	228
6	130	239	125	185	130	232

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 1)

Tabelle 8

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 0,8 mg Ergotamin pro 100 g s. c.					
1	124	227	116	180	109	189
2	124	253	121	182	123	186
3	139	231	106	183	129	199
4	117	257	138	169	115	173
5	127	245	125	180	129	169
6	130	240	120	181	109	180

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 2)

Tabelle 9

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 1,5 mg Protaminsulfat 1%ig pro 100 g s. c.					
1	117	240	116	189	127	239
2	115	250	134	186	119	239
3	118	240	127	170	128	221
4	126	250	120	190	117	241
5	129	243	125	179	112	237
6	130	238	119	170	136	230

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 3)

Tabelle 10

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 1,5 mg Protaminsulfat 1%ig pro 100 g s. c.					
1	118	257	128	180	107	168
2	139	233	130	171	116	175
3	133	259	128	180	130	188
4	130	249	128	187	135	187
5	130	235	119	175	129	179
6	119	234	122	185	115	198

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 4)

Tabelle 11

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 5 mg Avil pro 100 g s. c.					
1	138	246	118	185	138	238
2	128	240	118	168	110	230
3	125	230	132	165	130	223
4	112	258	100	167	119	239
5	108	256	130	193	130	228
6	125	254	110	176	118	249

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 5)

Tabelle 12

Tier Nr.	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase-quaddel	Farbstoff-quaddel	Farbstoff-Hy'ase quaddel
	vor		15 Minuten nach der 1.Injektion		15 Minuten nach der 2.Injektion	
	von 5 mg Avil pro 100 g s. c.					
1	135	249	120	180	125	190
2	130	248	130	168	120	169
3	123	235	130	179	123	178
4	135	253	132	188	125	178
5	128	254	127	170	113	178
6	140	256	134	175	126	155

Ergebnisse in Einzelwerten
(Versuchsreihe 6)

Tabelle 13

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	826	165	4·34	1%
Zwischen Verfahren	5	84.541	16.908	100·00	0·1%
Zwischen Lokalisationen	5	178	36	-	-
Zw.Quaddel-Typen	1	75.533	75.533	100·00	0·1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	75	75	1·97	-
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	48	48	1·26	-
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	4.203	4.203	100·00	0·1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	4.681	4.681	100·00	0·1%
Rest-Varianz	20	752	38		
Gesamt-Varianz	35	86.297	2.466		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 1)

Tabelle 14

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	233	47	-	
Zwischen Verfahren	5	71.490	14.298	100°00	0°1%
Zwischen Lokalisationen	5	881	176	2°23	-
Zw.Quaddel-Typen	1	56.248	56.248	100°00	0°1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	187	187	2°37	-
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	12	12	-	
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	15.006	15.006	100°00	0°1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	37	37	-	
Rest-Varianz	20	1.586	79		
Gesamt-Varianz	35	74.190	2.120		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 2)

T a b e l l e 15

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	178	36		
Zwischen Verfahren	5	97.826	19.565	100°00	0°1%
Zwischen Lokalisationen	5	284	57	1°06	-
Zw.Quaddel-Typen	1	84.584	84.584	100°00	0°1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	3	3	-	
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	0	0	-	
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	4.970	4.970	92°04	0°1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	8.269	8.269	100°00	0°1%
Rest-Varianz	20	1.081	54		
Gesamt-Varianz	35	99.369	2.839		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 3)

Tabelle 16

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	609	122	1°56	-
Zwischen Verfahren	5	69.434	13.887	100°00	0°1%
Zwischen Lokalisationen	5	317	63	-	
Zw.Quaddel-Typen	1	53.207	53.207	100°00	0°1%
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	72	72	-	
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	44	44	-	
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	16.087	16.087	100°00	0°1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	24	24	-	
Rest-Varianz	20	1.562	78		
Gesamt-Varianz	35	71.922	2.055		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 4)

T a b e l l e 17

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	685	137	1°21	-
Zwischen Verfahren	5	103.302	20.660	100°00	0°1%
Zwischen Lokalisationen	5	573	115	1°02	-
Zw.Quaddel-Typen	1	85.654	85.654	100°00	0°1%
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	10	10		
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	114	114	1°01	
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	7.140	7.140	63°19	0°1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	10.384	10.384	100°00	0°1%
Rest-Varianz	20	2.261	113		
Gesamt-Varianz	35	106.821	3.052		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 5)

T a b e l l e 18

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{emp.}$	p
Zwischen Tieren	5	295	59	-	
Zwischen Verfahren	5	69.377	13.875	100°00	0°1%
Zwischen Lokalisationen	5	186	37	-	
Zw.Quaddel-Typen	1	47.451	47.451	100°00	0°1%
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Farbstoff)	1	165	165	2°80	-
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbstoff)	1	140	140	2°37	-
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Hy'ase)	1	21.609	21.609	100°00	o°1%
Zw.Versuchs-Zeiten (Hy'ase)	1	12	12	-	
Rest-Varianz	20	1.184	59		
Gesamt-Varianz	35	71.042	2.030		

Varianz-Analyse
(Versuchsreihe 6)

Tabelle 19

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_v	126	38°0			
FH_v	236	13°4			
$F_{15'}$	120	8°6	- 6		-
$FH_{15'}$	184	113°0	-52	46°1%	0°1%
$F_{35'}$	124	30°6	- 2		-
$FH_{35'}$	224	147°4	-12	11°2%	

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 1)

Tabelle 20

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_v	127	54°2			
FH_v	242	141°0			
$F_{15'}$	121	111°2	- 6		-
$FH_{15'}$	179	26°2	- 63	52°6 %	o°1 %
$F_{60'}$	119	86°4	- 8		-
$FH_{60'}$	183	121°0	- 59	49°7 %	o°1 %

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 2)

Tabelle 21

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_v	122	43·4			
FH_v	243	27·8			
$F_{15'}$	123	42·6	+ 1		-
$FH_{15'}$	182	59·6	- 61	51·0 %	0·1 %
$F_{35'}$	123	76·6	+ 1		-
$FH_{35'}$	234	58·2	- 9	7·6 %	-

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 3)

Tabelle 22

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_v	128	67·0			
FH_v	245	143·8			
$F_{15'}$	126	18·6	- 2		-
$FH_{15'}$	180	35·8	- 65	54·4 %	0·1 %
$F_{60'}$	122	118·4	- 6		-
$FH_{60'}$	182	113·8	- 63	52·0 %	0·1 %

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 4)

Tabelle 23

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_V	123	120·6			
FH_V	247	117·8			
$F_{15'}$	118	145·6	- 5		-
$FH_{15'}$	175	127·0	- 72	57·0 %	0·1 %
$F_{35'}$	124	105·0	+ 1		-
$FH_{35'}$	234	87·4	- 13	10·2 %	-

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 5)

Tabelle 24

	$\bar{x}$ (V)	s^2(V)	$\bar{x}$(t) - $\bar{x}$(K)	Hemmung	Sicherung
F_V	132	36·6			
FH_V	249	57·4			
$F_{15'}$	129	24·2	- 3		-
$FH_{15'}$	177	53·4	- 72	59·6 %	0·1 %
$F_{60'}$	122	24·0	- 10		-
$FH_{60'}$	175	137·4	- 74	61·2 %	0·1 %

Mittelwerte, Mittelwertsdifferenzen
und statistische Sicherung
(Versuchsreihe 6)

Zusammenfassung:

Nachdem der Einfluß von Ergotamin, Protaminsulfat und Avil allein auf das Hyaluronidase-Spreading untersucht und festgestellt wurde, daß alle drei Substanzen, die den hyaluronidasehemmenden Effekt anderer Stoffe blockieren, für sich allein eine hyaluronidasehemmende Wirkung besitzen, wurde in dieser Arbeit gezeigt, welchen Einfluß eine zweite Injektion der gleichen Substanz (Ergotamintartrat, Protaminsulfat bzw. Avil) auf eine vorangehende Injektion hinsichtlich der Beeinflußung des Hyaluronidase-Spreadings ausübt. Bei einem Abstand von 20 Minuten zwischen beiden Injektionen wurde die Hemmung der zweiten Injektion wieder aufgehoben, während bei einem Abstand von 45 Minuten der hyaluronidasehemmende Effekt der zweiten Injektion wieder voll zur Wirkung kam.

Literaturverzeichnis:

1) Mathies, H.: Arzneim.-Forsch. 8, 233 (1958)

2) Mathies, H., Biechele, J.u.Hartmann, M.: Ärztliche Forsch. XIV, I/160 (1960)

3) Mathies, H.: Zsch.ges.exper.Med. 131, 118 (1959)

4) Mathies, H. u. v.Werther, G.: Arzeim.-Forsch. 9, 576 (1959)

5) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J.u.Schmidt, D.: Med. Exp. 1, 64 (1959)

6) Mathies, H., Batisweiler, T., Kreiselmaier, G. u. Will, E.: Arzneim.-Forsch.10, 484 (1960)

7) Mathies, H.: Med.Mschr. 12, 685 (1958)

8) Mathies, H. u. v.Werther, G.: Zschr.f.angew.Bäder-u.Klimaheilkunde 5, 503 (1958)

9) Mathies, H., Fuchs,E. u.Hiekmann, D.: Fund.baln.-bioclim. Vol.I, 369 (1960)

10) Mathies, H. u. Gareißen, G.: Med.Klin. 5, 190 (1960)

11) Mathies, H.: Zschr. f.Rheumaforsch. 18, 205 (1959)

12) Mathies, H.: Verh.Deutsch.Ges.inn.Med. LVIII (1959)

13) Domenjoz, R.: Arch.exper. Path.Pharmakol. 225, 14 (1955)

14) Mathies, H.: Zschr. f.Rheumaforsch. 18, 308 (1959)

15) Sayers, G. u. Sayers, M.: Endocrinology 40, 256 (1947)

16) Sayers, G. u. Sayers, M.: Ann. N.Y. Acad. Sci.50,522 (1949)

17) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. Vol.CXXIII, Fasc. III-IV,334 (1960)

18) Mathies, H., Oestreich, G. u. Schwalbach, K.: Immanuscript

19) Eichholtz, F.: Lehrb. d. Pharmakol., Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg, 80 (1957)

20) Schmid, D.: Diss. München (1960)

21) Schlierf, G.: Diss. München (1959)

22) Mathies, H. u. Schlierf, G.: Med.exper. 2, 333 (1960)

23) Mathies, H. u. Reindl, W.: in Vorbereitung

24) Hardegg, W. u. Mass, W.: Klin. Wschr. 33, 811 (1955)

25) Werle, E. u. Amann, R.: Naturwissenschaften 42, 583 (1955)

26) Mathies, H.: Naunyn - Schmiedeberg's Arch.exp.Path. Pharmak. 240, 31 (1960)

27) Loenicker, E.: Diss. München, in Vorbereitung

28) Kontis, N.: Diss. München, in Vorbereitung

29) Hougie, C.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. V. 98 (1958)
30) Marbet, R., Studer, A., Winterstein, A.: I.Int.Tg.Thromb. u. Emb. (1954)
31) Haas, H.: Histamine u. Antihistamine Editio Cantor K.G. (1952)
32) Konzett, H. u. Rothlin, E.: Experientia Vol. IX, 11 (1953)

Herrn Professor Dr. W. Seitz möchte ich für die Überlassung des Themas danken.
Herrn Dr. H. Mathies danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas.
Herrn Dipl.- Math.K. Liebrich bin ich für die Durchführung der statistischen Auswertung dankbar.

L e b e n s l a u f

Am 18. September 1936 wurde ich in Riedenburg geboren. Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule Riedenburg trat ich 1947 in das Humanistische Gymnasium Kloster Scheyern ein. Dort erhielt ich im Jahre 1956 das Zeugnis der Reife. Im November 1956 begann ich das Studium der Medizin in München. Sämtliche Semester verbrachte ich in München. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im April 1959, die ärztliche Staatsprüfung am 8. Juni 1962